

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**  
**AGRONOMSKI FAKULTET**  
**BILJNE ZNANOSTI**

**Božica Lukšić**

**Hranidbena vrijednost fermentirane travne mase**

**Diplomski rad**

**Mentor: izv. prof. dr. sc. Marina Vranić**

**Zagreb, 2017.**

## Sažetak

Siliranje je skladištenje zelene biljne mase u anaerobnim uvjetima, koji su pogodni za razvoj i aktivnost mikroorganizama koji fermentiraju biljne ugljikohidrate u organske kiseline čime se povećava kiselost biljne mase koja se tako konzervira u obliku fermentirane travne mase. Hipoteza ovog diplomskog rada je bila da su travne silaže proizvedene na OPG-ima osrednje do dobre hranjivosti. Cilj je bio utvrditi hranjivost uzoraka travnih silaža (n=149) s 10 OPG-a koji su analizirani NIR spektroskopijom u laboratoriju pokušališta Agronomskog fakulteta Centar za travnjaštvo na Medvednici obzirom na slijedeće kemijske parametre: suha tvar (ST), korigirana ST, sirovi proteini (SP), razgradivi SP, neutralna detergent vlakna (NDV), metabolička energija (ME), kiselost (pH), amonijski dušik (NH<sub>3</sub>-N), organska tvar (OT), šećer i probavljivost OT u ST (D-vrijednost). Analizirani uzorci fermentiranih travnih masa (n=149) s 10 OPG-a ukazuju na nisku kvalitetu i visoku varijabilnost svih kemijskih parametara, odnosno hranjive vrijednosti analiziranih uzoraka.

*Ključne riječi:* fermentirana travna masa, NIR spektroskopija, OPG, hranjivost fermentirane travne mase

## Summary

Ensiling is a process of green plant material storage under anaerobic conditions suitable for the development and activity of microorganisms fermenting vegetable carbohydrates into organic acids. In that way, the acidity of the plant mass is increased and the forage is conserved in the form of grass silage or haylage.

The hypothesis of this graduate paper was that the grass silages produced on family farms were of medium to good nutritional quality. The aim was to predict the nutritive quality by NIR spectroscopy of grass silage samples (n=149) collected on 10 family farms. The samples were analyzed in the Grassland Research Center of the Faculty of Agriculture in terms of: dry matter (DM), corrected DM, crude proteins (CP), degradable CP, neutral detergent fiber (NDF), metabolic energy (ME), acidity (pH), ammonia nitrogen ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ), organic matter (OM), sugar residuals and the digestibility of OM in DM (D-value).

The results indicate low quality of and high variability in all chemical components thus nutritive values of analysed samples.

*Key words:* fermented grass mass, NIR spectroscopy, family farms, nutritive value of fermented grass mass

Ovaj diplomski rad je ocijenjen i obranjen dana \_\_\_\_\_ s ocjenom

\_\_\_\_\_ pred Stručnim povjerenstvom u sastavu:

1. izv.prof.dr.sc. Marina Vranić \_\_\_\_\_

2. izv. prof. dr. sc. Krešimir Bošnjak \_\_\_\_\_

3. doc.dr.sc. Kristina Kljak \_\_\_\_\_

<b>1. Uvod</b>	<b>1</b>
<b>1.1. Tehnologija siliranja</b>	<b>1</b>
1.1.1. Košnja biljne mase	1
1.1.2. Direktno siliranje biljne mase (bez provenjavanja)	1
1.1.3. Siliranje provenute biljne mase	2
1.1.4. Previše provenuta biljna masa	2
1.1.5. Sjeckanje biljne mase	2
1.1.6. Zbijenost fermentirane biljne mase	3
1.1.7. Prijevoz biljnog materijala do silosa	3
1.1.8. Folije za zatvaranje silosa	3
1.1.9. Zatvaranje silosa	4
<b>1.2. Hranjivost fermentirane travne mase</b>	<b>4</b>
1.2.1.1. Utjecaj omjera trava i djetelina u tratini na hranjivost fermentirane travne mase	6
1.2.1.2. Utjecaj stadija fitofenološke zrelosti tratine prilikom košnje na hranjivost fermentirane travne mase	7
1.2.1. Kvaliteta fermentirane travne mase	8
1.2.1.1. Uzimanje uzorka fermentirane travne mase	8
1.2.2. Kemijske metode utvrđivanja kvalitete fermentirane travne mase	8
1.2.2.1. Suha tvar	8
1.2.2.2. Organska tvar	9
1.2.2.3. Sirovi proteini	9
1.2.2.4. Sirova vlakna	9
1.2.2.5. NDV – neutralna detergent vlakna	10
1.2.2.6. KDV – kisela detergent vlakna	10
1.2.2.7. Ugljikohidrati topivi u vodi (UTV)	10
1.2.2.8. Energija krme	11
1.2.2.9. Kvaliteta fermentacije	11
1.2.3. Utvrđivanje probavljivosti krme biološkim metodama	14
1.2.3.1. <i>In vivo</i> metoda utvrđivanja probavljivosti krme	14
1.2.3.2. <i>In vitro</i> metoda utvrđivanja razgradljivosti krme	15
1.2.3.3. <i>In sacco</i> ili <i>in situ</i> metoda	16
1.2.4. Fizikalna metoda procjene kemijskog sastava krme - NIR spektroskopija	16
1.2.4.1. Prednosti i nedostaci korištenja NIR spektroskopije u odnosu na klasične kemijske analize	16
1.2.4.5. Procjena kvalitete krme NIR spektroskopijom	17
1.3. Ranija istraživanja hranjivosti fermentirane krme na OPG-ima	17
<b>2. HIPOTEZA I CILJ RADA</b>	<b>19</b>

<b>3. MATERIJALI I METODE ISTRAŽIVANJA.....</b>	<b>20</b>
<b>4. REZULTATI I RASPRAVA.....</b>	<b>23</b>
<b>5. ZAKLJUČAK.....</b>	<b>28</b>
<b>6. POPIS LITERATURE.....</b>	<b>29</b>

# **1. Uvod**

## **1.1. Tehnologija siliranja**

Siliranje je skladištenje zelene biljne mase u anaerobnim uvjetima, koji su pogodni za razvoj i aktivnost mikroorganizama koji fermentiraju biljne ugljikohidrate u organske kiseline čime se povećava kiselost biljne mase koja se tako konzervira u obliku fermentirane travne mase. Najčešće se siliraju trave, mahunarke, djetelinsko-travne smjese i cijele biljke žitarica, osobito cijela biljka kukuruza. Tehnološki zahvati siliranja biljne mase uključuju košnju biljne mase, provenjavanje ili direktno siliranje, sjeckanje biljne mase, zbijanje biljne mase u silosu, prijevoz biljne mase do silosa, te zatvaranje silosa.

### **1.1.1. Košnja biljne mase**

Košnja se obavlja kondicioner kosilicama koje pokošenu biljnu masu kidaju ili gnječe čime se potiče evaporacija vlage pa se krmu može u kraćem vremenu silirati. Preporuka je da se travna masa kosi na visinu od 6-8 cm čime je smanjeno kontaminiranje krme tlom, brži je ponovni porast biljne mase jer biljke u donjim dijelu busa i u korijenu čuvaju energetske rezerve, manja je evaporacija vlage iz tla, biljna masa se prije provene jer ostaje prostora za strujanje zraka kroz donje dijelove otkosa. Većina vlakana se nalazi u donjem dijelu busa, pa niti previsoka košnja nije opravdana jer se tako dobiva krma sa manjim sadržajem vlakana i krma niskog prinosa suhe tvari (ST).

### **1.1.2. Direktno siliranje biljne mase (bez provenjavanja)**

Travna masa se može silirati direktno s polja, bez provenjavanja, ili se prije siliranja može provenuti. Siliranje travne mase bez provenjavanja se najčešće provodi radi nepovoljnih vremenskih prilika u vrijeme spremanja krme. Na taj način biljna masa se sprema u jednom proходу što je prednost dok je nedostatak nastanak silažnog soka, čijim se ocjeđivanjem iz silosa gube hranjive tvari i stvara se opasnost od zagađenja okoliša. Iako se fermentiranjem travne mase bez provenjavanja gube hranjive tvari, veći gubitci ipak nastaju odgađanjem roka košnje pa je produktivnije fermentiranje travne mase bez provenjavanja u usporedbi s gubiticima hranjiva koji nastaju odgađanjem roka košnje do povoljnih vremenskih prilika za

provenjavanje u polju. Što se tiče mahunarki, nije ih preporučljivo silirati bez provenjavanja zbog visokog pufernog kapaciteta.

### **1.1.3. Siliranje provenute biljne mase**

Odmah nakon košnje biljne mase, ista se u nekoliko navrata rastresa i preokreće strojevima kako bi se ubrzala evaporacija vlage odnosno kako bi se biljna masa provenula. Glavni cilj tog procesa je izgubiti vodu što prije, odnosno povećati sadržaj ST i koncentraciju ugljikohidrata topivih u vodi (UTV) kako bi se stvorili povoljni preduvjeti dobre fermentacije, spriječili gubici hranjivih tvari i povećala konzumacija te biljne mase. Povećanjem sadržaja ST biljne mase nema mogućnosti pojave neugodnog mirisa uzrokovanog sekundarnom fermentacijom zbog visokog sadržaja vlage u fermentiranoj travnoj masi. Duljina provenjavanja ovisi o vremenskim prilikama i dostupnoj mehanizaciji za spremanje krme.

### **1.1.4. Previše provenuta biljna masa**

Previše provenuta biljna masa predstavlja veliki problem prilikom fermentacije jer ju nije moguće čvrsto sabiti u silosu, pa je potrebno više vremena da se postignu anaerobni uvjeti uslijed čega dolazi do gubitaka hranjivih tvari i aktivnosti neželjenih aerobnih mikroorganizama. To je česti slučaj kod košnje tratine u kasnijoj fazi fitofenološke zrelosti jer takva krma ima visok sadržaj ST još u trenutku košnje i/ili ako je biljna masa provenuta na visok sadržaj ST (Vranić i sur., 2005).

Dobra kvaliteta fermentirane travne mase se može postići ako se sloj previše provenute biljne mase prekrije slojem neprovenute biljne mase. Ocjeđivanje silažnog soka iz neprovenute biljne mase će povećati sadržaj vlage u previše provenutoj travnoj masi, a neprovenuta biljna masa se lakše zbija pa se lakše mogu postići anaerobni uvjeti u previše provenutoj biljnoj masi.

### **1.1.5. Sjeckanje biljne mase**

Radi uspješnijeg oslobađanja staničnog sadržaja i lakšeg zbijanja biljne mase u silosu, biljnu masu je potrebno sjeckati da bi se postigli uvjeti za rast i razvoj bakterija mliječno kiselnog vrenja. Optimalna duljina sjeckanja biljne mase za fermentaciju u trench silose je od 2 do 4 cm, dok je za fermentaciju biljne mase u bale ovijene plastičnom folijom optimalna dužina 6 do 12 cm.



### **1.1.6. Zbijenost fermentirane biljne mase**

Zbijenost biljne mase u silosu je direktno povezano s temperaturom krme, aerobnim kvarenjem, otpuštanjem silažnog soka i fermentacijom. Zbijanjem travne mase u silosu može doći do gubitaka hranjivih tvari ocjeđivanjem silažnog soka. Zbijenost travne mase se povećava u silosu korištenjem težih traktora odnosno dodavanjem dodatnog tereta na traktore (željezni utezi) kako bi imali dodatni pritisak za zbijanje, te duljinom zbijanja biljne mase u silosu (Muck i Holmes, 2000).

Sjeckanje ili maceracija olakšava zbijanje biljne mase, a krma kasnijih rokova košnje se teže zbija u silosu u usporedbi s krmnom ranijih rokova košnje.

### **1.1.7. Prijevoz biljnog materijala do silosa**

Važno je što prije nakon košnje biljne mase, dovesti je do silosa, rasporediti po silosu i zbiti. U slučaju nepovoljnih vremenskih prilika ili mehaničkih kvarova uslijed procesa siliranja, biljnu masu treba zbiti i prekriti folijom dok se ne nastavi proces siliranja odnosno punjenja silosa.

### **1.1.8. Folije za zatvaranje silosa**

Za zatvaranje silosa, za ovijanje biljne mase u valjkaste bale ili za plastična crijeva najčešće se koriste polietilenske folije. Folije koje se koriste u tu svrhu moraju biti jednake debljine, ne smiju propuštati kisik te bi trebale biti tretirane ultravioletnim svjetlom u cilju sprječavanja oštećenja pod djelovanjem sunca. Debljina plastičnih folija je obično od 100 ili od 200  $\mu\text{m}$ , a ako se biljna masa planira skladištiti duže vrijeme potrebno je koristiti deblju foliju. Folija za ovijanje valjkastih bala je debljine od 20  $\mu\text{m}$  do 30  $\mu\text{m}$  te mora biti rastezljiva oko 20% u širinu a oko 70% u duljinu. Pri siliranju biljne mase u valjkaste bale i ovijanju plastičnom folijom, preporučljivo je provenuti ju na sadržaj ST od 450-650 g ST  $\text{kg}^{-1}$  kako bi se smanjio rizik od deformacije bala i oštećenja plastične folije prilikom transporta i skladištenja, a i od mogućeg kvarenja fermentirane biljne mase (Chamberlain i Wilkinson, 1996).

Na tržištu postoje različite plastične folije za ovijanje bala koje se osim prema boji razlikuju i u kvaliteti konačnog proizvoda. Vranić i sur. (2015.) su zaključili da je fermentirana travna masa ovijena zelenom plastičnom folijom sadržavala više organske tvari (OT) i fermentirane

metaboličke energije (ME) u ME, a manje amonijskog dušika u usporedbi sa fermentiranom travnom masom ovijenom plavom folijom. Fermentirana travna masa ovijena plavom plastičnom folijom je sadržavala manje kiselih detergent vlakana (KDV) i neutralnih detergent vlakana (NDV) a više sirovih proteina (SP), razgradivih SP i ostatka šećera u odnosu na biljnu masu ovijenom zelenom plastičnom folijom. Zaključeno je da je plava plastična folija bolja u očuvanju hranjivih tvari od zelene plastične folije.

Kasnijim istraživanjima (Jurčić, 2016) u kojima su uspoređivane crna, bijela i zelena folija, zaključeno je da je biljna masa koja je bila ovijena crnom plastičnom folijom sadržavala najviše ME, imala najveću probavljivost OT u ST i najviše NDV. Biljna masa koja je bila ovijena bijelom plastičnom folijom je sadržavala najviše ST i najviše KDV dok je biljna masa ovijena zelenom plastičnom folijom sadržavala najviše SP, ali značajno niži sadržaj ST u usporedbi s drugim bojama folije korištenim u istraživanju.

#### **1.1.9. Zatvaranje silosa**

Nakon punjenja, silos je potrebno što prije pravilno zatvoriti, a najkasnije unutar 12 do 24 sata. Ukoliko prođe više vremena dolazi do respiracije i zagrijavanja biljne mase što dovodi do gubitaka hranjivih tvari i površinskog kvarenja biljne mase. Kod fermentiranja travne mase u trench silose preporučljivo je postaviti foliju na zidove koja će spriječiti prodor zraka kroz zidove. Folija koja se stavlja na cijelu površinu silosa treba biti pričvršćena sa svih strana starim automobilskim gumama ili vrećama napunjenim pijeskom kao bi se spriječio prodor zraka u silažu. Prilikom završetka izuzimanja fermentirane travne mase, silos je potrebno folijom svaki put zatvarati.

### **1.2. Hranjivost fermentirane travne mase**

Hranjivost fermentirane travne mase se određuje na temelju 3 osnovna čimbenika: sadržaju hranjivih tvari, njihovoj probavljivosti i iskoristivosti istih. Ti čimbenici variraju ovisno o: stadiju rasta biljne mase u trenutku košnje, vrsti/kultivaru, starosti biljne mase kod ponovnog porasta, gnojdbi, te o načinu konzerviranja. Stadij rasta se smatra najvažnijim čimbenikom hranjivosti fermentirane travne mase. Fermentiranu travnu masu karakterizira nizak sadržaj probavljive energije i visoka voluminoznost zbog visokog sadržaja vode, lignina i pepela. Sadržaj ST je najvažniji faktor procesa fermentacije u silosu jer utječe na sve fizikalne,

kemijske i biološke procese u silosu. ST sadrži 30-60% vlakana koja su najvažniji izvor energije za preživace, njihovim porastom opada konzumacija hrane i njena energetska vrijednost a njihov stupanj lignifikacije, određuje probavljivost. Porastom sadržaja NDV dolazi do opadanja konzumacije hrane, a porastom sadržaja KDV smanjuje se probavljivost. Mlade biljke imaju veću probavljivost ST od zrelih biljaka jer starenjem raste udio stabljike a time i lignina što smanjuje probavljivost. Ako životinje nerado jedu ili odbijaju jesti krmu to upućuje na nisku hranjivost, a time dolazi i do niže konzumacije obroka. Osim hranjive vrijednosti, voluminozna krma mora biti besprijeckorne mikrobiološke kvalitete i bez štetnih tvari kao što su mikotoksini, teški metali, zemlja i druge nepoželjne tvari.

Minimalni sadržaj ST za siliranje trava je oko 25% pri kojem dolazi do malih ili nikakvih gubitaka hranjiva ocjeđivanjem silažnog soka, dok bi optimalan sadržaj ST bio oko 30-35% kod kojeg je visoka koncentracija vodotopivih šećera neophodnih za fermentaciju (Van Vuuren i sur., 1995).

Preporučljivi sadržaj ST za siliranje mahunarka je veći u odnosu na trave, on iznosi 45-65% zbog toga što mahunarke imaju visok puferni kapacitet i nizak sadržaj vodotopivih šećera. Prema preporuci Chamberlain-a i Wilkinson-a (1996) fermentirana travna masa bi trebala sadržavati više od 300 g kg<sup>-1</sup> ST, 150-175 g SP kg<sup>-1</sup> ST, 4,0-4,5 pH vrijednost, više od 11,00 MJ kg<sup>-1</sup> ST ME, više od 70% fermentirajuće ME u ME, 500-550 g NDV kg<sup>-1</sup> ST, manje od 50 g kg<sup>-1</sup> ST ukupnog dušika u formi NH<sub>3</sub>-N, više od 100 g rezidua šećera kg<sup>-1</sup> ST, 80-120 g mliječne kiseline kg<sup>-1</sup> ST.

Tablica 1 prikazuje kemijski sastav i hranjivost fermentirane travne mase u ovisnosti o fitofenološkim fazama zrelosti biljne mase (Kalivoda, 1990).

*Tablica 1. Kemijski sastav i hranjivost fermentirane travne mase (u g kg<sup>-1</sup> ST ako nije drugačije navedeno)*

<b>Sjenaža livadne trave, 1. otkos</b>	<b>ST<sup>1</sup></b>	<b>HJ</b>	<b>SP</b>	<b>PSP</b>	<b>SV</b>	<b>Ca</b>	<b>P</b>
<b>Prije vlatanja</b>	350	0,34	61	44	78		
<b>U vlatanju</b>	350	0,31	56	38	90	2,3	1,2
<b>Početak cvatnje</b>	350	0,27	49	31	101		
<b>Kraj cvatnje</b>	350	0,23	41	23	117		

<sup>1</sup>, ST, g kg<sup>-1</sup> svježeg uzorka ; suha tvar; HJ, hranidbena jedinica; SP, sirovi proteini; PSP, probavljivi sirovi proteini; SV, sirova vlakna; Ca, kalcij; P, fosfor.

#### **1.2.1.1. Utjecaj omjera trava i djetelina u tratini na hranjivost fermentirane travne mase**

Da bi se postigao maksimalni prinos ST po jedinici površine, mahunarkama je potrebna mala ili nikakva prihrana dušičnim gnojivima u odnosu na trave. Gnojidba trava dušikom osim što se odražava na prinos, povećava i sadržaj SP, udio lista, probavljivost stanične stijenke te konzumaciju ST. U smjesama trava i mahunarki, mahunarke su sposobne do određene granice nadomjestiti anorganski dušik vezivanjem atmosferskog dušika pomoću bakterija iz rodova *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium*, *Azorhizobium* i *Mesorhizobium* s većinom biljaka iz porodice leguminoza (Topol i Kanižai Šarić, 2013).

Halliday i Pate (1976) su utvrdili da se simbiotskim odnosom pojedinih djetelina i bakterija iz roda *Rhizobium* godišnje može fiksirati preko 250 kg atmosferskog dušika po ha. Uključivanjem mahunarka u smjesu s travama smanjuje se zagađenje okoliša jer nije potrebna visoka razina gnojidbe dušičnim gnojivima, dolazi do povećanja produktivnosti i kvalitete travne mase, produljuje se sezona napasivanja te se poboljšava iskorištenje i tla i životinja.

Mahunarke u odnosu na trave, sadrže više proteina i minerala, imaju veću koncentraciju organskih kiselina ali nižu koncentraciju ST i UTV (Castle i sur., 1983), te su manje pogodne za siliranje od trava radi visokog pufernog kapaciteta.

Perčulija i sur. (2005) navode da je najčešće limitirajuće hranjivo u proizvodnji travne mase upravo dušik koji povećava sadržaj SP, udio lista u odnosu na stabljike, brzinu probave stanične stijenke, konzumaciju ST, opskrbljenost životinje aminokiselinama i probavljivost. Hranjivost fermentirane travne mase i njen kemijski sastav ovise i o udjelu trava odnosno mahunarka jer s povećanjem udjela mahunarka raste sadržaj SP i pH vrijednost dok sadržaj mliječne kiseline opada.

#### **1.2.1.2. Utjecaj stadija fitofenološke zrelosti tratine prilikom košnje na hranjivost fermentirane travne mase**

Stadij fitofenološke zrelosti tratine prilikom košnje u velikoj mjeri utječe na hranjivost fermentirane travne mase jer o njemu ovisi koncentracija hranjiva po jedinici ST i količina krme koju životinja može konzumirati (Knežević i sur., 2009). Vranić i sur. (2010) zaključuju da je viši udio ST u fermentiranoj travnoj masi posljedica košnje biljne mase u kasnijim stadijima fitofenološke zrelosti, te da su se odgađanjem roka košnje povećavali: sadržaj ST, pH vrijednost i sadržaj NDV, a time je opadala hranjivost fermentirane travne mase.

Isti autori (Vranić i sur., 2004, 2005), nakon dvogodišnjeg istraživanja kvalitete fermentirane travne mase s 20-ak OPG-a SZ Hrvatske, ukazuju kako je neophodna edukacija poljoprivrednika o važnosti ranije košnje tratine za proizvodnju fermentirane travne mase visokog sadržaja hranjiva. Ranijom košnjom tratine izravno se utječe na hranidbenu vrijednost biljne mase i njen kemijski sastav čime se povećava i broj otkosa u sezoni (Gruber i sur., 1999). Minson (1990) navodi kako se češćom košnjom tratine povećava udio pepela jer kod mlađe travne mase prevladava lišće koje se lakše kontaminira zemljom, a uz to lišće sadrži više minerala od stabljika.

U vegetativnoj fazi razvoja biljaka udio lišća je jednak ili veći od udjela stabljika, dok se sa starošću tratine smanjuje udio lisne mase a povećava se udio stabljika odnosno opada količina SP, a raste količina sirovih vlakana (SV) (Knežević i sur., 2009). Aman (1983) navodi da je opadanje kvalitete krme povezano s povećanjem udjela lignina i strukturnih dijelova stanične stijenke, odnosno smanjenjem udjela SP i probavljivih dijelova biljne stanice, kao što je škrob. Novijim istraživanjem Kneževića i sur. (2009) utvrđeno je da je travno-djetelinska smjesa kasnog roka košnje imala signifikantno viši sadržaj ST od travne silaže ranog i srednjeg roka košnje. Nadalje, što se tiče SP, njihov udio je opadao kasnijim rokom košnje u odnosu na rani rok košnje dok se sadržaj NDV i KDV povećavao s odgađanjem roka košnje biljne mase. Autori su zaključili da je postignuta dobra kvaliteta fermentacije biljne mase te je maslačna

kiselina u potpunosti izostala unatoč tome što je pH-vrijednost bila relativno visoka te što je udio mliječne kiseline bio nizak što je u skladu s višim udjelom ST biljne mase silirane u bale ovijene plastičnom folijom.

Ranom košnjom opada prinos probavljive ST ali se povećava konzumacija i moguće je postići više otkosa tijekom godine, pa se tako kompenzira manji prinos ST kod ranijeg prvog otkosa. Odgađanjem roka košnje kvaliteta lisne mase sporije opada od kvalitete stabljike (Sanderson i Weding, 1989). Stoga bi bilo najbolje kositi u trenutku kada se istodobno postižu najveći prinosi ST i hranjivih tvari a kad je najveća energetska vrijednost. To je kod većine trava pred cvatnju a kod mahunarki u vrijeme kada je oko 30% biljaka u cvatnji.

### **1.2.1. Kvaliteta fermentirane travne mase**

Kvaliteta fermentirane travne mase se utvrđuje kroz fizikalne, kemijske, biološke, hranidbene i proizvodne karakteristike koje uključuju: sadržaj ST, SP, OT, KDV, NDV, ME, pH vrijednost, koncentraciju proizvoda fermentacije (mliječna kiselina i hlapive masne kiseline), sadržaj  $\text{NH}_3\text{-N}$ , konzumaciju hrane po volji, probavljivost i proizvodnost životinja.

#### **1.2.1.1. Uzimanje uzorka fermentirane travne mase**

Ovisno o obliku i veličini spremnika postoje propisana pravila za način i plan izuzimanja uzoraka fermentirane travne mase. Vrlo je važno da uzeti uzorak bude reprezentativan. Uzorci krme se uzimaju sondom iz nekoliko različitih mjesta kako bi se dobio krajnji uzorak veličine od 1 kilograma, koji će dati što stvarniju sliku kemijskog sastava fermentirane travne mase. Uzorak se nakon izuzimanja čvrsto zamota plastikom ili se stavi u plastične vrećice te je potrebno istisnuti što više zraka. Može se pričuvati u hladnjaku na temperaturi od 4°C par sati, te se što je prije moguće dostavi u laboratorij.

### **1.2.2. Kemijske metode utvrđivanja kvalitete fermentirane travne mase**

#### **1.2.2.1. Suha tvar**

ST je onaj dio biljne mase koji preostane kad se oduzme voda. Utvrđuje se liofilizacijom (sušenjem u smrznutom stanju) ili sušenjem uzorka u sušioniku. ST je potrebno što preciznije utvrditi jer se na njoj baziraju ostali kemijski parametri. Kako bi se kemijski parametri mogli međusobno uspoređivati, izražavaju se obzirom na 100%-tnu ST uzoraka u  $\text{g kg}^{-1}$  ST.

Pri sušenju fermentirane travne mase u sušioniku dolazi do gubitka hlapivih organskih sastojaka koji uključuju octenu, propionsku i maslačnu kiselinu, amonijak i druge dušične komponente, pa je ST utvrđena na taj obično podcijenjena. Stoga se razvija parametar za izračunavanje korigirane ST (KST) iz sadržaja ST utvrđenog sušenjem uzoraka u sušioniku.

#### **1.2.2.2. Organska tvar**

Ukupna količina mineralnih tvari odnosno sirovog pepela iz krme dobiva se spaljivanjem uzorka na temperaturi od 550 °C pri čemu nestaje sva OT a ostaje anorganski dio, odnosno pepeo. Tako se računski može odrediti količina OT, odnosno oduzimanjem pepela od ST. U OT sve kemijske sastavnice imaju energetska vrijednost.

#### **1.2.2.3. Sirovi proteini**

Određivanje proteina se provodi Kjeldahlovom metodom koja se temelji na razaranju, destilaciji i titraciji uzorka, pri čemu se preko određivanja količine dušika mjeri udio proteina. OT uzorka se izlaže djelovanju sumporne kiseline koja razori organski dušik, odnosno dušik se veže na sumpornu kiselinu i tvori amonijske soli (amonijev sulfat). Zatim nakon što se amonijev sulfat otopi u vodi, dodaje mu se lužina poznate koncentracije kako bi se oslobodio amonijak, koji se potom prodestilira u kiselinu određene koncentracije i nakon toga se titracijom utvrdi količina kiseline koja se vezala na amonijak. Tako se dalje računskim putem izračunava količina proteina u krmi, na način da se izmjerena vrijednost dušika pomnoži sa 6,25 odnosno poznatim prosječnim udjelom dušika u proteinima (16%). Poznato je da krma koja ima visok sadržaj SP obično ima i visoki sadržaj energije.

#### **1.2.2.4. Sirova vlakna**

Vlakna su ugljikohidrati stanične stijenke, a u hranidbi životinja od najvažnijeg značaja su netopljiva vlakna – celuloza, hemiceluloza i lignin. Samo određivanje vlakana zasnivalo se na metodi koja oponaša probavu, pa su sirova vlakna sagorivi ostatak nakon iskuhavanja u kiselini i lužini niske koncentracije i uklanjanja masti, voskova i pigmenata. Međutim, takvim određivanjem dolazi do djelomičnog otapanja celuloze i značajnog otapanja hemiceluloze i lignina, pa je podatak naveden ovom metodom nepouzdan za preživlje. Novija metoda utvrđivanja sadržaja vlakana (Van Soest i sur., 1991) se zasniva na pojedinačnoj izolaciji

celuloze, hemiceluloze i lignina iz stanične stijenke u otopini različitih detergenata, te je moguće odrediti sadržaj svakog od navedenog vlakna

#### **1.2.2.5. NDV – neutralna detergent vlakna**

Sadržaj NDV se utvrđuje kuhanjem uzorka krme u neutralnoj detergent otopini (lauril sulfata i etilenditetrooctene kiseline) kroz 1 sat pri čemu detergent ekstrahira lako topivu hranjivu tvar staničnog sadržaja. Drugu frakciju čine neotopljene tvari stanične stijenke koje zaostaju nakon kuhanja i ispiranja tvari staničnog sadržaja, a to su: celuloza, hemiceluloza, lignin, pepeo i dio bjelančevina koji je vezan na tvari stanične stijenke. Krma koja sadrži veću količinu NDV niže je konzumacije u usporedbi s krmom nižeg sadržaja NDV. NDV utječe na volumen hrane, duljinu preživljanja, lučenje sline, održavanje poželjnog pH buraga, motoriku predželudaca, proizvodnju mliječne masti kod životinja u laktaciji te održavanje zdravlja probavnog sustava.

#### **1.2.2.6. KDV – kisela detergent vlakna**

Sadržaj KDV se utvrđuje kuhanjem uzoraka krme u otopini kiselog detergenta (cetiltrimetilamonium bromidu) 1 sat. Utjecajem otopine kiselog detergenta ekstrahiraju se lako topive tvari i hemiceluloza, a KDV čine samo celuloza i lignin. KDV je neprobavljiva komponenta u krmu, a koristi se za procjenu probavljivosti krme i sadržaj energije krme. Krma koja ima veći sadržaj KDV ima i malu energiju i slabu probavljivost, to se objašnjava sadržajem lignina koji je neprobavljiv u probavnom sustavu preživača.

#### **1.2.2.7. Ugljikohidrati topivi u vodi (UTV)**

Životinje preferiraju krmu s većim sadržajem ugljikohidrata topivih u vodi (glukoza, fruktoza i galaktoza). Biljnu masu treba pokositi u ranijim fazama fitofenološke zrelosti, te u što kraćem vremenu nakon košnje je osušiti kako bi se povećao sadržaj ST te tako očuvalo više ugljikohidrata topivih u vodi. Oni su također dobar izvor energije za mikroorganizme buraga. Sadržaj ugljikohidrata topivih u vodi ovisi o vrsti biljke, fitofenološkoj zrelosti tratine, broju otkosa, dobi dana, intenzitetu svjetla, gnojidbi i temperaturi. Prije siliranja krme, njihov sadržaj govori koja je količina energije dostupna za proizvodnju mliječne kiseline tijekom procesa siliranja.



#### **1.2.2.8. Energija krme**

Količina dostupne energije za rast i razvoj mikroorganizama buraga ovisi o sadržaju energije krme. ME krme je preostali dio ukupne energije kad se oduzme energija fecesa, metana i urina. Probavljiva energija je energija hrane umanjena za energiju fecesa, energiju metana i urina i energija koja je potrošena za probavu i metabolizam.

#### **1.2.2.9. Kvaliteta fermentacije**

Kvaliteta fermentacije se može utvrditi obzirom na pH vrijednost uzoraka i udio pojedinih kiselina (mliječna, octena, maslačna, propionska) i koncentraciju amonijskog dušika ( $\text{NH}_3 - \text{N}$ ) u silaži (Knežević i sur., 2009). Kvalitetu fermentacije je važno poznavati i pratiti kako bi se mogli pojasniti mogući problemi proizašli iz hranidbe silažom.

##### **1.2.2.9.1. Vrijednost pH**

Vrijednost pH dobre silaže se u optimalnim granicama treba kretati između 3,8 – 4,1. Ukoliko je pH iznad 4,5, silaža je slabije kvalitete. Ako je zadovoljen šećerni minimum i ako su postignuti anaerobni uvjeti, pH bi se trebao nalaziti u optimalnim granicama. Ukoliko dođe do pada pH ispod optimalne granice odnosno ako se radi o većoj kiselosti, silaža je slabije palatabilnosti, te može doći do poremećaja acido-bazne ravnoteže u buragu preživača, a ako se radi o manjoj kiselosti silaža se podvrgava kvarenju, uzrokovanom razvojem plijesni i procesima truljenja. Puferni kapacitet biljnog materijala ovisi o količini organskih kiselina i njihovih soli, bjelančevina, minerala fosfora i kalcija a on utječe na brzinu i stupanj zakiseljavanja. Provenute silaže, odnosno silaže smanjenog sadržaja vode imaju ograničenu fermentaciju pa se stabiliziraju kod veće pH vrijednosti nego neprovenute odnosno one sa uobičajenim sadržajem vode. Silaža koja ima pH vrijednost veću od 4,5 je vrlo nestabilna i podvrgnut će se sekundarnoj fermentaciji odnosno pH vrijednost će rasti i može doći čak i do pH 7.

Vrijednost pH u silosu je povezana sa sposobnosti mikroorganizama da proizvode mliječnu kiselinu i s pufernim kapacitetom krme. Puferni kapacitet je prirodna sposobnost biljne mase da se odupre promjeni pH, osobito zakiseljavanju, što nije poželjno u procesu siliranja. Visoki puferni kapacitet imaju mahunarke, pa se teško siliraju, trave imaju osrednji puferni kapacitet, dosta lako se siliraju, a kukuruz niski i zato je najpogodniji za siliranje (Leto, 2015).

Puforni kapacitet se može smanjiti provenjavanjem krme. Silaža može biti stabilna ili nestabilna a to ovisi o kiselosti koja je postignuta u silosu. Stabilna silaža ima visok sadržaj mliječne kiseline koji sprječava djelovanje klostridija, a kod nestabilne se kiselost povećava spontano i ne može se spriječiti rast klostridija. Veća aktivnost klostridija povećava fermentaciju mliječne kiseline u maslačnu, pa pada kvaliteta silaže i paralelno raste pH vrijednost.

#### **1.2.2.9.2. Mliječna kiselina**

Koncentracija mliječne kiseline je indikator uspješnosti fermentacije silaže. Ona je osnovna kiselina u fermentiranoj travnoj masi te je njena koncentracija, kao i koncentracija drugih kiselina u silaži ovisna o sadržaju ST travne mase koja se silira (Chamberlain i Wilkinson, 1996). Ukoliko je niska koncentracija mliječne kiseline u silaži, bakterije mliječno kiselog vrenja nisu dominirale tijekom fermentacije i njihova aktivnost nije bila dovoljno brza pa to može dovesti do velikih gubitaka ST.

Bakterije mliječno kiselog vrenja su najznačajnija korisna skupina mikroorganizama pri siliranju. Stvaranjem anaerobnih uvjeta kreće njihov razvoj, one aktiviraju enzime koji razgrađuju glukozu i proizvode mliječnu kiselinu. U određenoj koncentraciji mliječna kiselina snižava pH biljne mase čime se onemogućava razvoj drugih nepoželjnih mikroorganizama. Pri pH vrijednosti 3,5 – 4,0 inhibira se daljnji razvoj mliječno kiselih bakterija te je silirani materijal konzerviran. Mliječno kiselinske bakterije se dijele na homofermentativne i heterofermentativne. Homofermentativne se smatraju pravim mliječno kiselim bakterijama jer razgrađuju gotovo sve vodotopive ugljikohidrate do mliječne kiseline. Heterofermentativne se smatraju nepoželjnima jer od fermentiranog šećera daju mliječnu ali i octenu kiselinu, te CO<sub>2</sub>, etilanol i glicerol što dovodi do sporijeg opadanja pH vrijednosti i većih gubitaka hranjivih tvari (Domaćinović, 2006).

Chamberlain i Wilkinson (1996) navode da se udio mliječne kiseline kod fermentirane travne mase visokog sadržaja ST može kretati od 20 do 200 g kg<sup>-1</sup> ST kod vlažnijih fermentiranih travnih masa, kompleksnog procesa fermentacije. Isti autori navode da je optimalni raspon udjela mliječne kiseline u dobro fermentiranim travnim masama pri sadržaju ST od 25 do 35%, 80 do 120 g kg<sup>-1</sup> ST.

#### **1.2.2.9.3. Maslačna kiselina**

Maslačna kiselina je jaka kiselina vrlo neugodnog mirisa, lošeg okusa a snižava i kvalitetu i hranjivu vrijednost fermentirane travne mase te ju preživači odbijaju konzumirati. Kod fermentiranih travnih masa, visokog sadržaja ST često se javlja visoka koncentracija maslačne kiseline. Njenu visoku koncentraciju uzrokuje fermentacija klostridija, do koje dolazi siliranjem vlažne travne mase niskog sadržaja energije. Fermentirana travna masa je nepoželjna ako sadrži više od 0,5% maslačne kiseline (Mokos, 1982) što upućuje na fermentaciju klostridija.

Bakterije maslačnog vrenja, pri visokoj vlažnosti fermentirane travne mase i nižem pH (4,0) razgrađuju ugljikohidrate topive u vodi i mliječnu kiselinu na maslačnu kiselinu, butilni alkohol, aceton, CO<sub>2</sub> i H<sub>2</sub> (Domaćinović, 2006). Tih anaerobnih bakterija je najviše na zelenoj travnoj masi koja je kontaminirana zemljom. Stvaranje maslačne kiseline se može izbjeći brzim postizanjem niže kiselosti od pH 4,2.

#### **1.2.2.9.4. Octena kiselina**

Octenu kiselinu proizvode aerobne bakterije octenog vrenja. Ti mikroorganizmi najintenzivnije djeluju u početku siliranja dok se u travnoj masi nalazi još dosta kisika. Koncentracija octene kiseline u fermentiranoj travnoj masi raste ukoliko je nedovoljno brza proizvodnja mliječne kiseline koja inhibira aktivnost bakterija octenog vrenja. U fermentiranoj travnoj masi se uobičajeno nalazi octena kiselina koja bi se trebala kretati u rasponu od 0,5% do maksimalno 1% (Domaćinović, 2006).

Djelovanjem bakterija octenog vrenja, ugljikohidrati topivi u vodi se razgrađuju na octenu kiselinu, etanol i H<sub>2</sub>. Do velike koncentracije octene kiseline u fermentiranoj travnoj masi dolazi kod siliranja prevlažne travne mase koja sadrži manje od 25% ST, produljene fermentacije, sporog punjenja silosa, neispravnog sabijanja travne mase u silos, te ako je fermentirana travna masa tretirana amonijakom (usporava fermentaciju). Koncentracija octene kiseline u fermentiranoj travnoj masi se može smanjiti prozračivanjem fermentirane krme tijekom 24 sata.

#### **1.2.2.9.5. Amonijski N**

Koncentracija amonijskog dušika se najčešće koristi kao indikator razine do koje je došlo do razgradnje proteina u silaži i kao indikator sekundarne fermentacije u silosu. Koristi se za procjenu potencijalne konzumacije fermentirane travne mase. Amonijski dušik ukazuje koja se količina ukupnog dušika razgradila tijekom fermentacije, pa je optimalni raspon prema Kungu i Shaveru (2001) u fermentiranoj travnoj masi je 8-12% od ukupnog SP.

#### **1.2.2.9.6. Alkohol - etanol**

Etanol proizvode gljivice tijekom fermentacije, a fermentiranoj travnoj masi daje karakterističan miris po alkoholu. Optimalni raspon koncentracije etanola u fermentiranoj travnoj masi je 0,5-1,0% (Kung i Shaver 2001).

Veća koncentracija etanola indikator je fermentirane travne mase loše fermentacije. Prozračivanjem fermentirane travne mase gljivice se aktiviraju i počinju s razmnožavanjem. Tako je u loše zbijenim silosima česta pojava povećane koncentracije etanola u fermentiranoj travnoj masi.

### **1.2.3. Utvrđivanje probavljivosti krme biološkim metodama**

Životinje koriste iz obroka samo onaj dio hranjivih tvari koji se u procesu probave prilagodio za resorpciju i koji se reapsorbirao u organima za probavu. Probavljivost krme je razlika između količine hranjive tvari primljene krmom i izlučenih u fecesu. Probavljivost krme je moguće utvrditi *in vivo* na životinjama, a razgradljivost krme *in vitro* u laboratoriju i *in sacco* na životinjama. Za utvrđivanje probavljivosti i razgradljivosti krme provode se istraživanja korištenjem ujednačenih životinja.

#### **1.2.3.1. *In vivo* metoda utvrđivanja probavljivosti krme**

Za utvrđivanje probavljivosti krme mogu se koristiti goveda ili ovce. Za onu količinu hranjivih tvari koje se nisu izlučile fecesom ili urinom, pretpostavka je da su apsorbirane u probavnom sustavu što se naziva „prividna probavljivost“. Stvarna probavljivost predstavlja apsorbiranu količinu hranjivih tvari iz obroka. Najčešće se utvrđuje probavljiva ST na način da se od konzumirane ST oduzme ST fecesa ili se utvrđuje probavljiva OT na isti način. Probavljiva OT je točnija od ST, jer mineralna komponenta krme može varirati u slučaju

kontaminacije krme zemljom i ovisno o fitofenološkoj zrelosti tratine prilikom košnje. Za utvrđivanje probavljivosti voluminozne krme, najčešće se izračunava probavljivost OT u ST (tzv. D-vrijednost od eng. D-value - digestibility) jer se tako utvrdi sadržaj dostupne energije u ST krme.

*In vivo* metodom se utvrđuje *ad libitum* konzumacija svježeg obroka, ST obroka, te ostalih kemijskih parametara ovisno o cilju istraživanja. Nadalje, utvrđuje se količina i kemijski sastav izlučenog fecesa i urina. Dnevno se uzimaju uzorci hrane, ostataka hrane, fecesa i urina što se po završetku istraživanja analiza klasičnim kemijskim metodama. Metoda je radno i financijski zahtjevna, ali je jedina na osnovu koje se kalibriraju *in vitro* metode procjene hranjivosti krme.

### **1.2.3.2. *In vitro* metoda utvrđivanja razgradljivosti krme**

Za postupak *in vitro* metode utvrđivanja razgradljivosti krme ograničavajući čimbenici su fistulirane životinje, moguća dislokacija laboratorija i životinja, a s time u vezi vrijeme transporta buražnog soka. Za provedbu ove metode je potreban izvor mikroba za što je najbolje koristiti svježi ruminalni sok koji je i najaktivniji u odnosu na druge moguće izvore mikroorganizama (liofilizirani ruminalni sok, osušeni ruminalni sok, prethodno zamrznuti ruminalni sok, svježi feces, zamrznuti feces...). Svježi ruminalni sok se može izuzeti sondom ili se operativnim zahvatom životinjama u području buraga ugradi fistila, iz koje se u anaerobnim uvjetima izuzima ruminalni sok i sprema u termos bocu koja je napunjena CO<sub>2</sub> plinom i zagrijana na 39°C.

Jedna od *in vitro* metoda određivanja razgradljivosti obuhvaća indirektno utvrđivanje razgradljivosti supstrata - preko količine proizvedenog plina tijekom inkubacije uzoraka u anaerobnim uvjetima, na temperaturi od 39°C (temperatura tijela preživača). Plin proizveden tijekom inkubacije se sastoji od direktnog plina koji je proizvod fermentacije i indirektnog plina koji se oslobodio iz ruminalnog soka i pufera, odnosno fermentacijom organskog materijala iz buražnog soka. Tijekom inkubacije mikroorganizmi fermentiraju proteine i topive ugljikohidrate na hlapive masne kiseline i plinove, a tijekom provođenja plinske metode određivanja razgradljivosti prati se proizvodnja plinova CO<sub>2</sub> i metana.

### **1.2.3.3. *In sacco* ili *in situ* metoda**

*In sacco* ili *in situ* metoda je metoda utvrđivanja razgradljivosti krme koja obuhvaća inkubaciju uzoraka u buragu fistuliranih životinja. Koriste se vrećice određene poroznosti koje sprječavaju izlazak uzorka iz vrećice i omogućuju ulazak mikroorganizama buražnog soka u vrećicu. U vrećicu se stavlja uzorak a zatim se vrećica stavlja u burag ovce gdje ostaje na inkubaciji tijekom određenog vremena (2, 4...96 sati). Nakon inkubacije, vrećice izvađene iz buraga stavljaju se u hladnu vodu da se prekine daljnji proces fermentacije uzorka te se ispiru u stroju za pranje rublja. Oprane vrećice se s ostatkom uzorka suše u sušioniku 48 sati na temperaturi od 60°C. Nakon što su uzorci osušeni do konstantne težine, izvažu se te se tako utvrdi razgrađena ST. Za razliku u masi uzorka između ulazne mase i mase nakon inkubacije u buragu se pretpostavlja da je razgrađena.

### **1.2.4. Fizikalna metoda procjene kemijskog sastava krme - NIR spektroskopija**

Refleksijska spektroskopija u bliskom infracrvenom području (engl. Near Infrared Reflectance Spectroscopy - NIRS) bazira se na pozitivnoj korelaciji između kemijskih osobina uzoraka koje se utvrđuju klasičnim kemijskim metodama, - „mokrom” kemijom - i apsorpciji svjetla na različitim valnim duljinama u bliskom infracrvenom području, mjereno pomoću refleksije koja se za procjenu kemijskog sastava oslanja na kalibracije (Batten, 1998). Ključne prednosti NIR spektroskopije u odnosu na klasičnu, „mokru” kemiju su brzina i točnost rezultata uz valjanje kalibracije.

NIR spektroskopija je fizikalna, nedestruktivna metoda koja može dati precizne i točne rezultate uz minimalnu ili nikakvu pripremu uzoraka. Širu primjenu i razvitak ove tehnologije usporava visoka cijena aparata, a i potrebno je razvijati kalibracijske metode pomoću zahtjevnih kalibracijskih procedura i složene obrade podataka što je dugotrajan i skup posao. NIR spektroskopija je kemometrijska tehnika, objedinjuje više znanstvenih disciplina poput kemije, matematike, statistike, biologije, agronomije i dr.

#### **1.2.4.1. Prednosti i nedostaci korištenja NIR spektroskopije u odnosu na klasične kemijske analize**

Prednosti:

- brza analiza,

- NIRS aparat je jednostavan za korištenje,
- jednostavna je interpretacija rezultata,
- robusna aparatura koja se ne kvari te nije potrebna podrška specijalista za održavanje,
- obuka za korištenje aparata traje oko 30 minuta,
- rezultati su prepoznatljivi i usporedivi širom svijeta,
- fizička nedestruktivna metoda, zahtjeva minimalnu ili nikakvu pripremu uzorka a daje visoku preciznost,
- multi analitička tehnika jer istovremeno određuje nekoliko parametara.

Nedostaci:

- visoka cijena aparata,
- potreba za dugotrajnim i radno zahtjevnim kalibracijskim procedurama,
- složenost rada za obradu podataka i nedovoljna osjetljivost za sastavnice koje se nalaze u manjim količinama,
- ponekad je nemoguć transfer kalibracija zbog optičkih razlika među aparatima.

#### **1.2.4.5. Procjena kvalitete krme NIR spektroskopijom**

Uspjeh razvoja pouzdane kalibracije za rad s NIR aparatom ovisi o pouzdanosti rezultata referentnih kemijskih metoda korištenih za razvoj kalibracije. Pouzdaniji kalibracijski model je lakše razviti korištenjem osušenih i samljevenih uzoraka. Kemijski sastav i probavljivost voluminozne krme za hranidbu preživača se s visokom pouzdanošću mogu procjenjivati NIR spektroskopijom.

Vranić i sur. (2005) su utvrdili mogućnost procjene sadržaja ST i SP svježih uzoraka travne silaže NIR spektroskopijom pomoću PLS metode te navode visoki potencijal NIR spektroskopije uz standarne greške procjene rezultata od 29,74; 0,31 i 6,64 za sadržaj ST, SP izraženo u % i SP izraženo u g kg<sup>-1</sup> ST.

### **1.3. Ranija istraživanja hranjivosti fermentirane krme na OPG-ima**

Vranić i sur. (2004) su utvrdili hranidbenu vrijednost travnih silaža na 19 obiteljskih poljoprivrednih gospodarstava, većih proizvođača mlijeka iz pet različitih županija. Uzorke su analizirali jednom mjesečno NIRS aparatom, i procjenjivali slijedeće parametre: ST,

korigiranu suhu tvar (KST), SP, razgradive sirove proteine (RSP), NDV, ME, pH, amonijski dušik ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ), šećere, probavljivost organske tvari u ST (D-vrijednost) i faktor konzumacije za goveda (FK). Temeljem analiza su utvrdili velike varijacije prosječne hranidbene vrijednosti svih procijenjivanih parametara u uzorcima. Najveće varijacije su utvrdili za udjel ST (od 166-785  $\text{g kg}^{-1}$ ), SP (60-220  $\text{g kg}^{-1}$  ST), NDV (300-605  $\text{g kg}^{-1}$  ST) i  $\text{NH}_3\text{-N}$  (61-530  $\text{g N kg}^{-1}$  ukupnog N). Između pojedinih OPG-ova, utvrdili su statistički značajne razlike ( $P<0,05$ ) za sadržaj ST, NDV, ME, šećera i D-vrijednosti. Devet od 19 gospodarstava je zadovoljilo kriterije travne silaže dobre kvalitete.

Vranić i sur. (2005) su nastavili pratiti hranidbenu vrijednost travnih silaža kako bi usporedili dobivene rezultate s prethodnim istraživanjem (Vranić i sur., 2004). 2005. je u istraživanje bilo uključeno 18 OPG-ova, većih proizvođača mlijeka iz pet različitih županija. Uzorci su skenirani također jednom mjesečno i isti su parametri procjenjivani kao u prethodnom istraživanju. Ponovno su utvrđene velike varijacije prosječne hranidbene vrijednosti svih procjenjivanih parametara kvalitete u uzorcima. Najveće varijacije su utvrdili za udjel kST (od 126-825  $\text{g kg}^{-1}$  svježeg uzorka), SP (50-217  $\text{g kg}^{-1}$  ST), NDV (370-593  $\text{g kg}^{-1}$  ST) i  $\text{NH}_3\text{-N}$  (49-337  $\text{g N kg}^{-1}$  ukupnog N). Između pojedinih OPG-ova, utvrdili su statistički značajne razlike ( $P<0,05$ ) za sadržaj KST, SP, ME,  $\text{NH}_3\text{-N}$ , D-vrijednosti i fermentiranu metaboličku energiju u metaboličkoj energiji (FME/ME). Utvrđeno je da su analizirani uzorci travne silaže tijekom druge godine istraživanja, u prosjeku imali nižu kvalitetu u odnosu na analizirane uzorke iz prve godine istraživanja. Uzorci iz druge godine istraživanja imali su statistički značajno niži ( $P<0,05$ ) sadržaj SP, rezidua šećera i D-vrijednost. Tri od 18 gospodarstava je zadovoljilo kriterije travne silaže dobre kvalitete. Rezultati ukazuju da je na lošiju kvalitetu utjecao kasniji rok košnje biljne mase, te da je poljoprivrednicima potrebna edukacija o spremanju kvalitetnije travne silaže.

Vranić i sur. (2010) su utvrđivali hranjivost travnih silaža temeljenih na sadržaju ST. Istraživanje su provodili na 477 uzoraka, različitog podrijetla i kvalitete i analizirali ih NIR spektroskopijom. Utvrđivali su udio SP, NDV, probavljivost OT u ST (D-vrijednost), ME, pH i  $\text{NH}_3\text{-N}$ . Uzorke su razvrstali prema sadržaju ST u 8 razreda: 1.  $<228$ ; 2. 229-313; 3. 314-398; 4. 399-483; 5. 484-568; 6. 569-653; 7. 654-738; 8.  $>739$   $\text{g kg}^{-1}$ . Utvrdili su da je povećanjem sadržaja ST opadao ( $P<0,05$ ) sadržaj SP, D-vrijednost, ME, a povećavao se ( $P<0,05$ ) udio NDV i pH vrijednosti. Navode da je razlog višeg sadržaja ST košnja tratine u kasnijim fazama fitofenološke zrelosti.



## **2. HIPOTEZA I CILJ RADA**

Hipoteza ovog diplomskog rada je da su travne silaže proizvedene na OPG-ima osrednje do dobre hranjivosti.

Cilj je bio utvrditi hranjivost uzoraka travnih silaža s 10 OPG-a koji su analizirani NIR spektroskopijom u laboratoriju pokušališta Agronomskog fakulteta Centar za travnjaštvo na Medvednici obzirom na slijedeće kemijske parametre: suha tvar (ST), korigirana ST, sirovi proteini (SP), razgradivi SP, neutralna detergent vlakna (NDV), metabolička energija (ME), kiselost (pH), amonijski dušik ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ), organska tvar (OT), šećer i probavljivost OT u ST (D-vrijednost).

### 3. MATERIJALI I METODE ISTRAŽIVANJA

U radu je korišteno ukupno 149 uzoraka travnih silaža i sjenaža prikupljenih s 10 OPG-a tijekom tri godine (2013., 2014., 2015.).

Dostavna vlaga ( $\text{g kg}^{-1}$  svježeg uzorka) je utvrđena sušenjem uzoraka u sušioniku s ventilatorom (tvrtke ELE International) na temperaturi od  $60^{\circ}\text{C}$  do konstantne mase uzoraka (slika 1). Ovako osušeni uzorci su samljeveni na veličinu čestica od 1 mm korištenjem mlina čekićara tvrtke Christy (Model 11) i dalje korišteni za spektrofotometrijsku analizu.



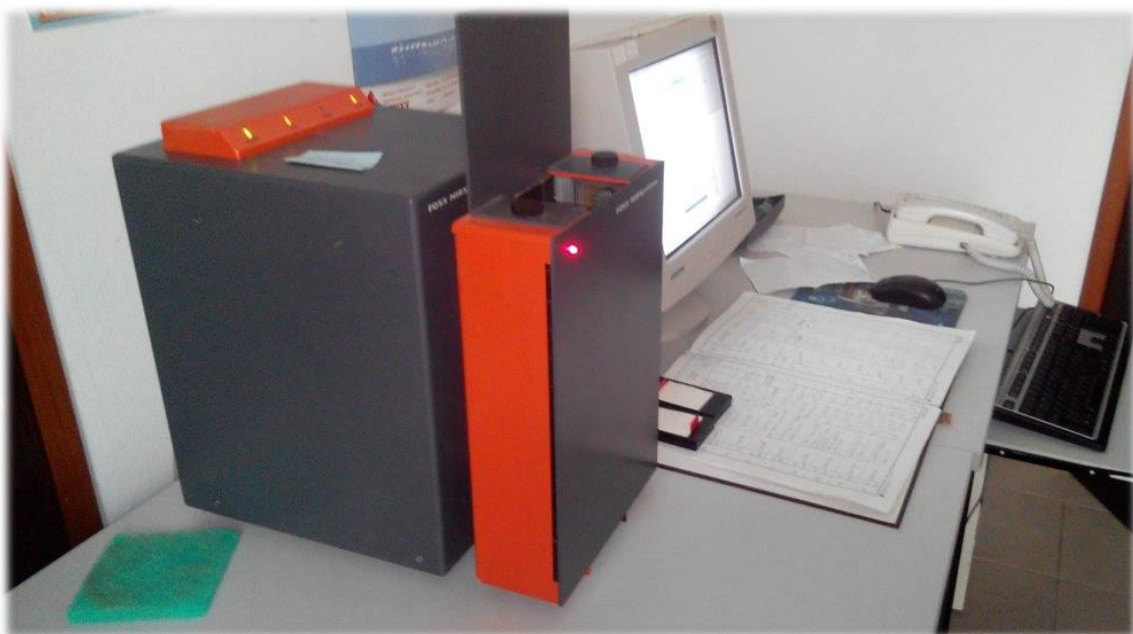
Slika 1. Uzorci za skeniranje u sušioniku (vlastiti izvor)

Uzorci su dalje dosušivani tri sata u sušioniku na temperaturi od  $105^{\circ}\text{C}$ , a nakon hlađenja u eksikatoru punjeni u kivetu (dimenzije 5,0 x 6,5 cm) za skeniranje osušenih i samljevenih uzoraka (slika 2).



Slika 2. Punjenje kivete uzorkom za skeniranje (vlastiti izvor)

Svi uzorci su skenirani na NIRS aparatu (Foss, model 6500; slika 3) pomoću infracrvenog elektromagnetskog spektra, u valnoj duljini 1100 - 2500 nm korištenjem ISI SCAN programa (verzija 1.5 (Infrasoft International, Port Matilda, PA, USA)). Spektrima uzoraka su pridružene odgovarajuće kalibracije. Obzirom na prethodno utvrđenu količinu dostavne ST, procijenjeni su slijedeći parametri hranjivosti: korigirana ST, sirovi proteini (SP), razgradivi SP, neutralna detergent vlakna (NDV), metabolička energija (ME), kiselost (pH), amonijski dušik ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ), šećer i probavljivost OT u ST (D-vrijednost). Rezultati istraživanja su obrađeni korištenjem statističkog programa SAS (SAS Institut, 1999) korištenjem GLM procedure.



Slika 3. NIRS aparat korišten prilikom mjerenja parametara hranjivosti fermentiranih travnih masa (vlastiti izvor)

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

Tablica 2 prikazuje prosječni kemijski sastav i hranidbenu vrijednost svih analiziranih uzoraka fermentirane travne mase u tri godine istraživanja (2013., 2014. i 2015.).

*Tablica 2. Kemijski sastav i hranidbena vrijednost svih analiziranih uzoraka fermentirane travne mase*

Parametar	Prosjek	sd	min	max
<b>ST</b> , g kg <sup>-1</sup>	412,26	142,11	138	783
<b>kST</b> , g kg <sup>-1</sup>	425,40	143,18	141	783
<b>FME/ME</b>	0,69	0,09	0,60	0,95
<b>ME</b> , MJ kg <sup>-1</sup> ST	9,45	1,18	7,10	12,30
<b>D-vrijednost</b> , %	59,16	7,32	44	77
<b>SP</b> , g kg <sup>-1</sup> ST	126,48	45,38	50	220
<b>Razgradivi SP</b> , % SP	90	0,06	73	95
<b>NDV</b> , g kg <sup>-1</sup> ST	451,10	191,36	329	605
<b>KDV</b> , g kg <sup>-1</sup> ST	322,11	98,31	170	601
<b>pH</b> vrijednost	4,94	0,50	3,4	5,8
<b>NH<sub>3</sub>-N</b> , g N kg <sup>-1</sup> uk N	196,65	94,06	11	400
<b>OT</b> , g kg <sup>-1</sup> ST	944,44	20,22	833	960
<b>FK-goveda</b>	104,87	11,76	70	130
<b>šećeri</b> , g kg <sup>-1</sup> ST	31,56	30,81	0,00	166

sd, standardna devijacija; ST, suha tvar; kST, korigirana suha tvar; FME, fermentirajuća metabolička energija; ME, metabolička energija; SP, sirovi proteini; Razgradivi SP, Razgradivi SP u buragu; NDV, neutralna detergent vlakna; KDV kisela detergent vlakna; NH<sub>3</sub>-N, količina amonijskog dušika u ukupnom dušiku; OT, organska tvar; FK-goveda, faktor konzumacije goveda.

Prosjeak ST ( $412,26 \text{ g kg}^{-1}$ ) svježeg uzorka svih analiziranih uzoraka fermentirane travne mase uklapa se u vrijednosti parametara ( $>300 \text{ g kg}^{-1}$  svježeg uzorka) za idealnu fermentiranu travnu masu prema Chamberlainu i Wilkinsonu (1996). Sadržaj ST biljne mase za siliranje je značajan za brzinu i visinu fermentacije, mogući gubitak hranjiva ocjeđivanjem i za konzumaciju životinja. Kako bi se spriječili gubici hranjivih tvari ocjeđivanjem ili da ti gubici budu minimalni, potrebno je da travna masa prije siliranja ima minimalno  $250 \text{ g ST kg}^{-1}$  svježeg uzorka (Van Vuuren i sur., 1995). Od ukupno 149 analiziranih uzoraka, 31 uzorak po svom nižem sadržaju ST ( $<300 \text{ g kg}^{-1}$  svježeg uzorka) se ne uklapa u preporuke za idealnu fermentiranu travnu masu (Chamberlain i Wilkinson, 1996). Mogući uzrok tome je predugo provenjavanje zelene biljne mase nakon košnje i/ili košnja u kasnijoj fazi fitofenološke zrelosti. Prema O'Kielyu i Mucku (1998) optimalne vrijednosti sadržaja ST fermentirane travne mase bi se trebale kretati od 300 do  $400 \text{ g kg}^{-1}$  svježeg uzorka, te prema njihovoj preporuci 58 analiziranih uzoraka ima poželjan sadržaj ST.

Sadržaj korigirane ST analiziranih fermentiranih travnih masa je u prosjeku iznosio  $425,40 \text{ g ST kg}^{-1}$ , no velika je razlika između minimalne ( $141 \text{ g ST kg}^{-1}$ ) i maksimalne ( $783 \text{ g ST kg}^{-1}$ ) utvrđene vrijednosti. Ukupno 53 analizirana uzorka su se kretala u optimalnom rasponu od 300 do  $400 \text{ g ST kg}^{-1}$ , dok se 67 analiziranih uzoraka kretalo iznad  $400 \text{ g kg}^{-1}$ , te je maksimalna vrijednost iznosila  $783 \text{ g kg}^{-1}$  što je dvostruko više od optimalne vrijednosti.

Prema idealnoj slici fermentirane travne mase Chamberlaina i Wilkinsona (1996) sadržaj ME bi trebao biti viši od  $11,00 \text{ MJ kg}^{-1} \text{ ST}$ , dok je prosjek analiziranih uzoraka fermentirane travne mase u ovom istraživanju ispod navedene vrijednosti ( $9,45 \text{ MJ kg}^{-1} \text{ ST}$ ). U 17 analiziranih uzoraka je sadržaj ME bio poželjne vrijednosti ( $11,00 - 12,30 \text{ MJ kg}^{-1} \text{ ST}$ ). Gledano prema godinama istraživanja (tablica 3), prosječno niti u jednog godini, sadržaj ME nije bio poželjne vrijednosti (2013.  $9,52 \text{ MJ kg}^{-1} \text{ ST}$ ; 2014.  $9,45 \text{ MJ kg}^{-1} \text{ ST}$ ; 2015.  $9,32 \text{ MJ kg}^{-1} \text{ ST}$ ).

Fermentirajuća metabolička energija (FME), odnosno energija dostupna mikroorganizmima buraga, se stvara u manjim količinama razgradnjom vlakana, a u većoj količini razgradnjom šećera i škroba. Chamberlain i Wilkinson (1996) navode da bi sadržaj FME u idealnoj fermentiranoj travnoj masi trebao biti viši od 70%. Prosjek analiziranih uzoraka (69%) je približan onome idealne fermentirane travne mase, te 65 analiziranih uzoraka sa sadržajem FME većim od 70% imaju dostatne količine energije za mikroorganizme buraga.

Tablica 3 prikazuje utjecaj godine proizvodnje (2013., 2014. i 2015.) na kemijski sastav i hranjivost analiziranih uzoraka fermentirane travne mase.

*Tablica 3. Utjecaj godine proizvodnje (2013., 2014. i 2015.) na kemijski sastav i hranjivost analiziranih uzoraka fermentirane travne mase*

<b>Parametri</b>	<b>poželjne vrijednosti*</b>	<b>2013.</b>	<b>2014.</b>	<b>2015.</b>	<b>prosjeak</b>
<b>ST</b> , g kg <sup>-1</sup>	>300	366,92	383,85	550,44	412,26
<b>FME/ME</b> , %	>70	69	67	74	69
<b>ME</b> , MJ kg <sup>-1</sup> ST	>11,00	9,52	9,45	9,32	9,45
<b>D-vrijednost</b> , %	>65	59,51	59,35	58,16	59,16
<b>SP</b> , g kg <sup>-1</sup> ST	150-175	129,93	130,75	111,68	126,48
<b>Razgradljivi SP</b> , %	80	93	90	88	90
<b>NDV</b> , g kg <sup>-1</sup> ST	500-550	444,38	468,48	456,43	451,10
<b>pH-vrijednost</b>	4,0-4,5	5,00	4,77	5,16	4,94
<b>NH<sub>3</sub>-N</b> , g N kg <sup>-1</sup> uk N	<50	167,55	171,70	299,00	196,65
<b>FK-GOVEDA</b>	>120	103,55	104,00	109,00	104,87
<b>šećeri</b> , g kg <sup>-1</sup> ST	>100	28,15	36,51	27,55	31,56

\*Chamberlain i Wilkinson (1996)

ST, suha tvar; FME, fermentirajuća metabolička energija; ME, metabolička energija; SP, sirovi proteini; NDV, neutralna detergent vlakna; NH<sub>3</sub>-N, količina amonijskog dušika u ukupnom dušiku;; FK-goveda, faktor konzumacije goveda.

Prosječna D-vrijednost analiziranih uzoraka (59,16%) je manja od poželjne vrijednosti (>65) idealnih fermentiranih tavnih masa (Chamberlain i Wilkinson 1996). D-vrijednost je varirala od 44 do 77% što upućuje na fermentiranu travnu masu osrednje do loše kvalitete. Samo 36 analiziranih uzoraka od ukupnih 149 je imalo poželjnu D-vrijednost. Huhtanen i sur. (2002) navode da je konzumacija ST fermentirane travne mase u pozitivnoj korelaciji s D-vrijednosti. Što je probavljivost krme veća, veća je i konzumacija obroka.

Faktor konzumacije goveda govori koju je količinu hrane konzumiralo govedo. Izračun se temelji na tjelesnoj masi goveda često povezanoj s metaboličkom tjelesnom masom a kod muznih krava se često uključuje proizvodnja mlijeka. Faktor konzumacije goveda je također

manji od poželjne vrijednosti ( $>120$ ), u prosjeku iznosi 104,87 što govori da goveda slabo preferiraju ovu krmu. Samo 7 analiziranih uzoraka je povoljnog faktora konzumacije, vrijednosti više od 120.

Udjel NDV analiziranih uzoraka se kretao od 329 g kg<sup>-1</sup> ST do 605 g kg<sup>-1</sup> ST. Poželjno je da fermentirana travna masa sadrži 500 do 550 g NDV kg<sup>-1</sup> ST (Chamberlain i Wilkinson, 1996). U optimalnom rasponu poželjne fermentirane travne mase bilo je 14 analiziranih uzoraka. Kod fermentiranih travnih masa produkti fermentacije više utječu na konzumaciju nego NDV, dok je kod nefermentirane krme obratno. U fermentiranoj travnoj masi su vlakna kao strukturni ugljikohidrati glavni izvor energije (Phipps i sur., 2000), te stoga energetska vrijednost krme ovisi o razinama ugljikohidrata u buragu (NRC, 2001).

Sadržaj SP analiziranih uzoraka u prosjeku (126,48 g kg<sup>-1</sup> ST) ne ulazi u raspon idealne fermentirane travne mase (150-175 g kg<sup>-1</sup> ST). Samo 25 uzoraka od ukupno analiziranih je sadržavalo količinu SP koja se uklapa u optimalni raspon SP (150-175 g kg<sup>-1</sup> ST), 25 uzoraka je sadržavalo više od gornje (175 g kg<sup>-1</sup> ST) dok je preostalih 99 uzoraka sadržavalo manje SP od donje optimalne granice (150 g kg<sup>-1</sup> ST) prema Chamberlainu i Wilkinsonu (1996). Variranje sadržaja SP od 50 do 220 g kg<sup>-1</sup> ST ukazuje na neke od sljedećih mogućnosti: da je biljna masa košena u različitim fazama fitofenološke zrelosti, i/ili je različiti udio mahunarki u biljnoj masi, i/ili su bili loši vremenski uvjeti i/ili je do samog postupka siliranja pa je zato kod nekih uzoraka relativno nizak sadržaj SP. McDonald i Whittenbury (1973) navode kako sadržaj proteina može biti u pola manji u fermentiranoj travnoj masi u odnosu na biljnu masu od koje potječe.

Utvrđena prosječna razgradljivost SP u buragu od 90% je optimalna za fermentiranu travnu masu. Proteini u fermentiranoj travnoj masi su visoko topivi u buragu (Phipps i sur., 1981), no zbog nedostatka vodotopivih šećera u fermentiranoj travnoj masi, mikroorganizmi buraga ih ne mogu iskoristiti za sintezu svojih proteina, pa proteini ostaju neiskorišteni ako nema priljeva energije iz drugih izvora.

Poželjna pH vrijednost idealnih fermentiranih travnih masa prema Chamberlainu i Wilkisonu (1996) je u rasponu od 4,0 do 4,5, a prosječna pH vrijednost analiziranih uzoraka (4,94) prelazi tu vrijednost. Vrijednost pH fermentirane travne mase ponajprije ovisi o pufernom kapacitetu biljke i sadržaju UTV, ali i o sadržaju ST. Rezultati istraživanja Gordona i Murdocha (1978) upućuju da fermentirana travna masa visoke kvalitete može imati relativno visok pH (5,0) zbog visokog sadržaja ST biljne mase za siliranje (51,4%). Prema tome, povišen prosječni pH analiziranih uzoraka (4,94) u ovom istraživanju je najvjerojatnije rezultat većeg prosječnog sadržaja ST (412,26 g kg<sup>-1</sup>).



Sadržaj  $\text{NH}_3\text{-N}$  se smatra dobrim indikatorom za količinu ukupnog N koji se potpuno razgradio tijekom fermentacije. Također se smatra najboljim indikatorom sekundarne fermentacije, pa se koristi kao pokazatelj kvalitete fermentacije i potencijalne konzumacije fermentirane travne mase. Udio  $\text{NH}_3\text{-N}$  analiziranih uzoraka fermentirane travne mase je u prosjeku ( $196,65 \text{ g N kg}^{-1}$  uk N) puno viši od onog u idealnoj fermentiranoj travnoj masi koji bi trebao iznositi manje od 50 (Chamberlain i Wilkison, 1996). Samo jedan od svih analiziranih uzoraka imao je manji sadržaj  $\text{NH}_3\text{-N}$  ( $11,00 \text{ gN kg}^{-1}$  uk N) od 50, do su svi drugi analizirani uzorci prekoračili tu vrijednost, pa čak i do  $400 \text{ g N kg}^{-1}$  uk N.

Henderson i sur. (1982) su utvrdili kako se povećanjem sadržaja ST fermentirane travne mase smanjuje sadržaj  $\text{NH}_3\text{-N}$  a raste sadržaj proteinskog N. U ovom istraživanju sadržaj  $\text{NH}_3\text{-N}$  je puno viši unatoč višem sadržaju ST pa su mogući razlozi tom opažanju da prilikom siliranja biljna masa nije dovoljno sabijena, i/ili nisu dovoljno brzo postignuti anaerobni uvjeti i/ili je fermentirana travna masa bila podvrgnuta sekundarnoj fermentaciji pri otvaranju silosa.

Sadržaj šećera u idealnoj fermentiranoj travnoj masi bi trebao prelaziti  $100 \text{ g kg}^{-1}$  ST ali prosjek analiziranih uzoraka ( $31,56 \text{ g kg}^{-1}$  ST) je puno niži od te vrijednosti što objašnjava visoku pH vrijednost. U fermentiranoj travnoj masi nije bilo dovoljno šećera kako bi došlo do intenzivnog razvoja poželjnih mikroorganizama koji bi spustili pH vrijednost.

U odnosu na ranija istraživanja (Vranić i sur., 2004, 2005 i 2010) u ovom istraživanju su dobivene veće vrijednosti sadržaja ME i D-vrijednosti, a pH vrijednost je bliža optimalnoj vrijednosti za fermentiranu travnu masu koja iznosi 4,0-4,5 (Chamberlain i Wilkinson, 1996).

## 5. ZAKLJUČAK

Analizirani uzorci fermentiranih travnih masa ( $n=149$ ) s 10 OPG-a ukazuju na nisku kvalitetu i visoku varijabilnost kemijskih parametara i hranidbenih vrijednosti. Mogući razlozi loše kvalitete fermentirane travne mase analiziranih uzoraka bi mogli biti slijedeći: predugo provenjavanje zelene biljne mase nakon košnje, košnja u kasnijoj fazi fitofenološke zrelosti, različiti udio mahunarki u biljnoj masi, loši vremenski uvjeti, neispravan postupak siliranja (nedovoljno sabijena biljna masa i/ili nedovoljno brzo postizanje anaerobnih uvjeta) i/ili je fermentirana travna masa bila podvrgnuta sekundarnoj fermentaciji pri otvaranju silosa.

## 6. POPIS LITERATURE

1. Aman, L. (1983). Chemical composition and in vitro degradability of individual chemical constituents of six Swedish grasses harvested at different stage of maturity. *Swed.Jour.Agric. Research*, 13, 221-227.
2. Batten, G.D. (1998). Plant analysis using near infrared reflectance spectroscopy: the potential and the limitations. *Australian Journal of the Experimental Agriculture*. Vol (38): 697-706.
3. Castle, M.E., Reid, D., Watson, J.N. (1983). Silage and milk production: studies with diets containing white clover silage. *Grass and Forage Science*, 38, 193-200.
4. Chamberlain, A.T., Wilkinson, J.M. (1996). Feeding the Dairy Cow. Chalcombe Publications, Painshall, Ln2 3LT, UK
5. Domaćinović M. (2006). Hranidba domaćih životinja. Poljoprivredni fakultet u Osijeku, 228-234
6. Gordon, F.J., Murdoch, J.C. (1978). An evaluation of a high-quality grass silage for milk production, *Journal of the British Grassland Society*, Volume 33, 5-11.
7. Gruber, L., Steinwider, A., Stefanon, B., Steiner, B., Steinwender, R. (1999). Influence of grassland management in Alpine regions and concentrate level on N excretion and milk yield of dairy cows. *Livestock Production Science* 61, 155-170.
8. Halliday, J., Pate, J.D. (1976.). The reduction assay as a means of studying nitrogen fixation in white clover. *Journal of the British Grassland Society*, 312, 29-35.
9. Henderson, A.R., Mc Donald, P., Anderson, D.H. (1982). The effect of silage additives containing formaldehyde on the fermentation of ryegrass ensiled at different drymatter levels and on the nutritive value of direct-cut silage. *Animal feed Science and Technology*, 7, 303-314.

10. Huhtanen, P., Khalili, H., Nousiainen, J.I., Rinne, M., Jaakkola, S., Heikkilä, T., Nousiainen, J. (2002.). Prediction of the relative intake potential of grass silage by dairy cows. *Livestock Production Science*, 73, 111-130.
11. Jurčić, P., (2016). Kvaliteta biljne mase silirane u valjkaste bale ovijene folijom različite boje. Završni rad.
12. Kung, L., Shaver, R. D. (2001): Interpretation and use of silage fermentation analysis reports. *Focus on Forage* 3(13), 1-5.
13. Knežević, M., Vranić, M., Perčulija, G., Kutnjak, H., Matić, I., Teskera, M. (2009). Utjecaj roka košnje travno-djetelinske smjese na kemijski sastav i kvalitetu fermentacije silaže. *Mljekarstvo* 59 (1), 49-55
14. Leto, J., (2015) Spremanje silaže. *Gospodarski list*, 2015 (22) , 41-53  
<<http://www.gospodarski.hr/Publication/2015/13-14/prilog-broja-spremanje-silae/8272#.WPp5LdKLTIU>> Pristupljeno: 21. travnja 2017.
15. Mc Donald, P., Whittenbury, R. (1973). The ensilage process. P.33-60. In: G.W. Butler and R.W. Bailey (ed.) *Chemistry and biochemistry of herbage*. Vol. 3. Academic Press, London and New York.
16. Minson, D.J. (1990). Forage in Ruminant Nutrition. Academic Press, San Diego, USA, 483 pp. 181-185.
17. Mokos, Đ. (1982). Opća hranidba domaćih životinja, »Školska knjiga« Zagreb, Masarykova 28. 45-46
18. Muck, R.E., Holmes, B.J. (2000). Factors affecting bunker silo densities. *Applied Engineering in Agriculture* 15(6):613-619.
19. National research council (NRC) (2001): Nutrient Requirements of Dairy Cattle. Seventh Revised Edition 2001. National Academic Press, Washington, D.C., 381 pp.

20. O'Kiely, P., Muck, R.E. (1998). Grass silage. In: Cherney, J.H., Cherney, D.J.R. (eds) Grass for Dairy Cattle, CAB International, 223-250.
21. Phipps, R.H., Sutton, J.D., Beever, D.E., Jones, A.K. (2000): The effect of crop maturity on the nutritional value of maize silage for lactating dairy cows. 3. Forage intake and milk production. *Animal Science*, 71, 401-409.
22. Phipps, R.H., Weller, R.F., Smith, T. (1981). Protein studies with maize silage. *Journal of Agricultural Science*, Cambridge, 96, 283-290.
23. Perčulija G., Knežević M., Leto J., Vranić M., Bošnjak K., (2005). Variranje kemijskog sastava travno-djetelinskih smjesa tijekom vegetacijske sezone u različitim agroekološkim uvjetima, *Mljekarstvo* 55 (4) 309-322.
24. Sanderson, M.A., Weding, W.F. (1989). Phenological stage and herbage quality relationship in temperate grasses and legumes. *Agronomy Journal* 81, 864-869.
25. Topol, J., Kanižai Šarić, G. (2013). Simbiotska fiksacija dušika u ekološkoj poljoprivrednoj proizvodnji, *Agronomski glasnik*, Vol 75, No. 2-3.
26. Van Vuuren, A.M., Huhtanen, P., Dulphy, J.P. (1995). Improving the feeding and health value of ensiled forages. In: M.Journet, E.Grenet, M.-H. Farce, M.Thieriez, C.Demarquilly, Editors, Recent developments in the Nutrition of Herbivores, Proceedings of the IV th International Symposium on the Nutrition of Herbivores, INRA Editions, Paris (1995.): pp. 279-307.
27. Van Soest P.J., Robertson J.B., Lewis B.A. (1991). Method for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74: 3583-3597.
28. Vranić, M., Knežević, M., Perčulija, G., Leto, J., Bošnjak, K., Rupiće, I., (2004). Kvaliteta voluminozne krme na obiteljskim poljoprivrednim gospodarstvima u Republici Hrvatskoj; Kvaliteta travne silaže na obiteljskim poljoprivrednim gospodarstvima. *Mljekarstvo* 54 (3) 165-174.

29. Vranić, M., Knežević, M., Leto, J., Perčulija, G., Bošnjak, K., Kutnjak, H., Maslov, L., (2005). Kvaliteta voluminozne krme na obiteljskim poljoprivrednim gospodarstvima u Republici Hrvatskoj: Monitoring kvalitete travne silaže tijekom dvije sezone zimske hranidbe muznih krava. *Mljekarstvo* 55 (4) 283-296.
30. Vranić, M., Knežević, M., Bošnjak, K., Perčulija, G., Leto, J., Kutnjak, H., Lujanac, M., (2010). Hranjivost travnih silaža bazirana na sadržaju suhe tvari. *Poljoprivreda* 16 (2) 42-46.
31. Vranić, M., Bošnjak, K., Andrić, I., Pintar, J., Leto, J., Tadić, M., (2015). Utjecaj boje plastične folije na hranjivost sjenaže silirane u valjkaste bale. Proceedings 50th Croatian and 10th International Symposium on Agriculture. Opatija. Croatia (489–492).
32. Izvori slika: snimila Božica Lukšić
33. Izvor tablica 1: Kalivoda, M. (1990). Krmiva – Sastav, hranjiva vrijednost i primjena u hranidbi domaćih životinja. Školska knjiga, Zagreb.